

## МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СУСПЕНЗИИ

Козловский В.И., Акулёнок А.В.

*УО «Витебский государственный медицинский университет»,  
Беларусь*

Адгезия лейкоцитов к эндотелию представляет собой одно из ключевых этапов патогенеза многих заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Несмотря на значимость исследования адгезии лейкоцитов, эти методы пока не нашли широкого применения в практике в связи с их сложностью. Существуют простые и дешевые методы исследования адгезии лейкоцитов к стеклу, нейлону, др. полимерам [Редчиц Е.Г., 1991]. Однако регистрация проводится путем микроскопической оценки изменений числа лейкоцитов, что не только в определенной мере субъективно, но и требует значительных затрат времени лаборанта. В настоящей работе предложен простой и быстрый способ оценки адгезии лейкоцитов *in vitro*, основанный на регистрации изменений светопропускания суспензии лейкоцитов до и после инкубации вместе с волокнистым субстратом с помощью агрегометра AP 2110 «СОЛАР».

Целью работы явилось разработка метода адгезии лейкоцитов к волокнистому субстрату и сравнение его со стандартным методом.

### *Материал и методы исследования*

Образцы крови получали у 30 здоровых людей (16 (53%) мужчин и 14 (47%) женщин, средний возраст  $53,7 \pm 9$  лет) и 220 больных артериальной гипертензией (АГ) (95 (43,2%) мужчин и 125 (56,8%) женщин, средний возраст  $57,1 \pm 8,6$  лет).

Для приготовления суспензии лейкоцитов осуществляли забор 5 мл венозной крови в пластиковые пробирки с 3,8% раствором цитрата натрия (9:1). Плазму с лейкоцитами получали путём отстаивания крови в пробирках, находящихся под углом 45 градусов при температуре  $4^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа. Исследование адгезии проводили в течение 30-60 мин от момента взятия крови.

С помощью агрегометра «СОЛАР» измеряли начальные значения светопропускания (А1) 0,5 мл суспензии лейкоцитов. В течение 20 минут при комнатной температуре производили инкубацию лейкоцитарной суспензии вместе с волокнистым субстратом и повторно изме-

ряли светопропускание (A2). Изменение светопропускания оценивали по формуле  $\Delta A = A2 - A1$  (ед.).

Предложенный метод сравнили с методом Mege Y. и соавт. (1989). Недостатком этого метода является трудность очистки капилляров.

Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета программ «Statistica 6.0».

### Результаты исследований

На рис. 1, 2 представлена графическая зависимость светопропускания лейкоцитарной суспензии от содержания лейкоцитов до и после адгезии на волокнистом субстрате. Очевидно, что большему содержанию лейкоцитов в суспензии соответствует меньшая величина светопропускания. Коэффициенты корреляции между этими показателями до и после адгезии на субстрате составляли соответственно  $r_1 = -0,93$  и  $r_2 = -0,89$  ( $p < 0,05$ ).

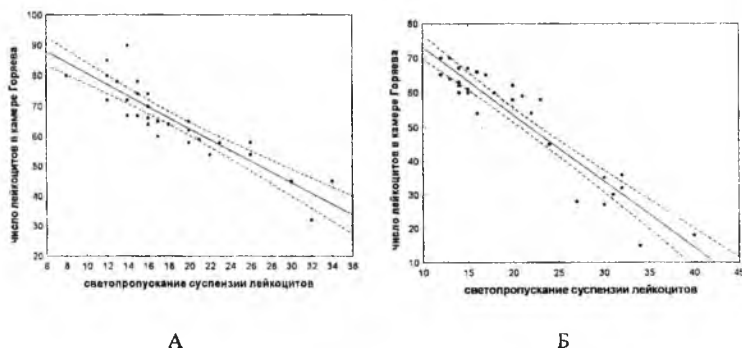


Рис. 1. Корреляционная зависимость светопропускания лейкоцитарной суспензии от содержания лейкоцитов до адгезии на субстрате (А) и после адгезии (Б).

Изменение светопропускания лейкоцитарной суспензии достоверно коррелирует с изменением количества лейкоцитов при их адгезии на волокнистом субстрате ( $r = 0,94$   $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Подтверждение адгезии лейкоцитов на волокнах субстрата было получено при микроскопическом исследовании. Всё вышеизложенное свидетельствует о том, что изменение светопропускания суспензии лейкоцитов связано с их прилипанием к волокнам субстрата.

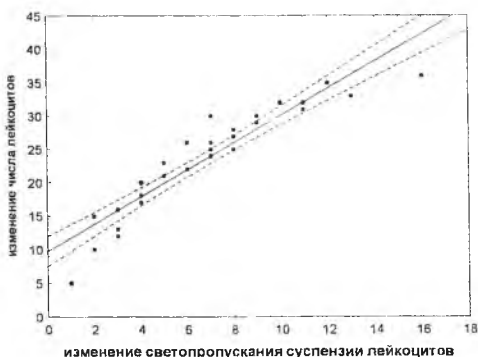


Рис. 2. Корреляционная зависимость изменения светопропускания лейкоцитарной суспензии и изменения числа лейкоцитов после адгезии на субстрате.

У здоровых людей выявлена невысокая степень адгезивной активности лейкоцитов, равная  $3,4 \pm 1,7$  ед. Показатели адгезии лейкоцитов у мужчин и женщин достоверно не отличались (соответственно  $3,38 \pm 1,6$  ед. и  $3,36 \pm 1,8$  ед.,  $p > 0,05$ ). Показатель адгезии лейкоцитов в возрастной группе 40-50 лет составил  $3 \pm 1,2$  ед., 50-60 лет —  $3,3 \pm 1,5$  ед., 60-70 лет —  $3,9 \pm 2,3$  ед. Отличия между группами были недостоверными ( $p > 0,05$ ). У больных АГ показатели адгезии при гипертоническом кризе и в конце стационарного лечения (соответственно  $7 \pm 2,1$  и  $5,4 \pm 2$  ед.) достоверно превышают показатели у здоровых людей ( $p < 0,01$ ). Показатель адгезии лейкоцитов у больных АГ в возрастной группе 40-50 лет составил  $4,8 \pm 0,96$  ед., 50-60 лет —  $6,8 \pm 2$  ед., 60-70 лет —  $7,2 \pm 2,1$  ед.

Для оценки воспроизводимости метода мы осуществили повторное измерение адгезии лейкоцитов у 5 здоровых людей и 10 больных АГ (трижды в течение недели). При этом средний коэффициент вариации составлял соответственно 9% и 8,6%, что указывает на отсутствие значительной вариабельности показателя адгезии лейкоцитов.

Обнаружена высокие коэффициенты корреляции результатов, полученных при измерении адгезии лейкоцитов у 30 здоровых людей и 15 больных АГ методом Меге У. [1989] и предложенным нами методом (коэффициент ранговой корреляции Спирмена составлял соответственно 0,93;  $p < 0,01$ ). Однако исследование адгезивных свойств лейкоцитов вместе с волокнистым субстратом с помощью агрегометра AP 2110 «СОЛАР» требует существенно меньше времени (25 мин против 60), позволяет провести объективную регистрацию изменения числа лейкоцитов вследствие адгезии, что делает этот метод сравни-

тельно простым и высокоинформативным. Благодаря дешевизне расходных материалов метод может быть рекомендован для использования в широкой клинической практике.

#### *Литература*

1. Mege Y., Eon B., Saux P. et al. Inhibition of granulocyte adhesion by pentoxifylline and analogues: effects of leukocyte function // Proceedings of the Workshop. – 1989. – P. 17-23.

2. Редчиц Е.Г., Гузеева О.В. Адгезия нейтрофилов: патогенетические и методические аспекты // Лаб. дело. – 1991. – № 5. – С. 4-8.

### **ОЦЕНКА НАРУШЕНИЙ АДГЕЗИИ И АГРЕГАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ И ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

**Козловский В.И., Акулёнок А.В.**

*УО «Витебский государственный медицинский университет»,  
Беларусь*

Повышение адгезии и агрегации лейкоцитов является фактором риска повреждения эндотелия и органной дисфункции при артериальной гипертензии (АГ). Адгезированные к эндотелию нейтрофилы снижают тканевую перфузию, повреждают эндотелий через высвобождение цитотоксических медиаторов [Mazzoni M.C., 1996]. Макрофаги секретируют металлопротеиназы и катепсины, что способствует разрыву атеросклеротической бляшки, окклюзии сосуда и развитию острой церебральной или коронарной ишемии [Libby P., 2001]. Эпидемиологические исследования продемонстрировали наличие положительной корреляции между увеличением числа нейтрофилов и риском развития ишемической болезни сердца [Sweetnam P.M., 1997]. Несмотря на значительную роль лейкоцитов в дисфункции и повреждении эндотелия, в литературе отсутствует информация об использовании показателей адгезии и агрегации лейкоцитов в прогнозировании вероятности развития осложнений и летальных исходов при АГ.

Целью работы было установление прогностического значения показателей адгезии и агрегации лейкоцитов в определении вероятности развития острых расстройств коронарного и церебрального кровотока, летальных исходов у больных АГ.